

Pendugaan Gen *Bph1*, *bph2*, *Bph3*, dan *bph4* pada Galur-galur Padi Terpilih Tahan Hama Wereng Batang Cokelat (*Nilaparvata lugens*[Stål])

Diani Damayanti* dan Dwinita W. Utami

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian, Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111
Telp. (0251) 8337975; Faks. (0251) 8338820; *E-mail: d.damayanti19@gmail.com

Diajukan: 2 Januari 2014; Diterima: 28 Maret 2014

ABSTRACT

Estimation of *Bph1*, *bph2*, *Bph3*, and *bph4* Genes on Selected Rice Lines Resistant to Brown Planthopper (*Nilaparvatalugens* [Stål]). *Diani Damayanti and Dwinita W. Utami.* Pests are major constraints to increasing rice production and brown planthoppers/BPH (*Nilaparvata lugens* [Stål]) is one of the major pests of rice plant. Resistance cultivar is one of the strategies for BPH management. The objective of this research was to analyze the *Bph1*, *bph2*, *Bph3*, and *bph4* gene existence on the selected rice lines using the molecular markers. The phenotype of the rice lines were tested based on their response to BPH population collected from West Java and Central Java. Molecular markers linked to *Bph1*, *bph2*, *Bph3*, and *bph4* were used to characterize the genotypic profile based on PCR analysis. The results showed that there are six genotypes resistant to one of the BPH populations from West Java or Central Java. The six rice varieties were detected to have not only allele of *Bph3* gene, but also other different allele genes. B12344-2D-PN-42-1 and Inpari 13 were detected to have the alleles of *Bph3* dan *Bph1* genes. B12512-18-SI-3-3-MR-3-PN-1, B12512-18-SI-3-3-MR-3-PN-1, BMIP46-4-1, and PTB33 were detected to have the alleles of *Bph3* and *bph2* genes. Meanwhile, B11007E-MR-3-2-PN-2-1-MR-1-2 was detected to have alleles of three genes: *Bph3*, *bph2*, and *bph4*. Nevertheless, this last line had medium resistance to both BPH populations invested. There is a possibility that the interaction between two genes, *Bph3* and *bph4*, occurred which may affect the resistance responses of rice varieties tested to BPH.

Keywords: BPH resistance gene marker, promising rice line, gene estimation.

ABSTRAK

Pendugaan Gen *Bph1*, *bph2*, *Bph3*, dan *bph4* pada Galur-galur Padi Terpilih Tahan Hama Wereng Batang Cokelat (*Nilaparvata lugens* [Stål]). *Diani Damayanti dan Dwinita W. Utami.* Serangan hama wereng batang cokelat/ WBC (*Nilaparvata lugens* [Stål]) merupakan kendala utama peningkatan produksi beras. Pengendalian WBC melalui penanaman varietas tahan merupakan salah satu upaya penanganan WBC yang efektif. Tujuan penelitian ini adalah untuk melakukan analisis pendugaan gen-gen *Bph1*, *bph2*,

Bph3, dan *bph4* pada beberapa galur/varietas terpilih berdasarkan analisis molekuler. Pengujian fenotipe didasarkan pada hasil penelitian sebelumnya, yaitu menggunakan populasi WBC asal Jawa Tengah dan Jawa Barat. Keberadaan gen-gen ketahanan terhadap WBC pada beberapa galur terpilih dideteksi dengan analisis PCR menggunakan marka DNA terkait dengan gen *Bph1*, *bph2*, *Bph3*, dan *bph4*. Hasil analisis menunjukkan terdapat enam genotipe yang bersifat tahan terhadap populasi WBC Jawa Barat atau Jawa Tengah. Keenam galur/varietas tersebut selain terdeteksi memiliki alel gen *Bph3*, juga terdeteksi memiliki alel gen lain. Keenam galur/varietas tersebut, yaitu galur B12344-2D-PN-42-1 dan varietas Inpari 13 yang terdeteksi memiliki alel gen *Bph3* dan *Bph1* serta galur B12512-18-SI-3-3-MR-3-PN-1, B12512-18-SI-3-3-MR-3-PN-1, BMIP46-4-1, dan varietas PTB33 yang terdeteksi memiliki alel gen *Bph3* dan *bph2*. Galur B11007E-MR-3-2-PN-2-1-MR-1-2 terdeteksi memiliki alel dari tiga gen, yaitu *Bph3*, *bph2*, dan *bph4*. Meskipun terdeteksi memiliki tiga alel gen ketahanan, galur B11007E-MR-3-2-PN-2-1-MR-1-2 hanya bersifat agak tahan terhadap kedua populasi uji. Terdapat kemungkinan adanya interaksi antara gen *Bph3* dan *bph4* yang berpengaruh terhadap respon ketahanan tanaman padi terhadap hama WBC.

Kata kunci: Marka gen ketahanan WBC, galur harapan padi, pendugaan gen.

PENDAHULUAN

Hama wereng batang cokelat/WBC (*Nilaparvata lugens* [Stål]) merupakan salah satu hama utama tanaman padi. WBC merusak langsung tanaman padi dengan cara mengisap cairan sel tanaman dan juga dapat berperan sebagai vektor virus penyebab penyakit kerdil rumput dan kerdil hampa (Mochida, 1979; Oka dan Bahagiawati, 1984). Ledakan populasi WBC dapat terjadi pada areal yang luas apabila faktor pengendali populasi tidak bekerja dengan baik. Faktor pengendali populasi tersebut antara lain varietas tahan, musuh alami (predator, parasitoid, patogen), iklim, cara bercocok tanam padi, dan penggunaan insektisida.

Setiap tahun WBC menyerang tanaman padi di beberapa tempat di Indonesia. Selama tahun 1986–1990, luas serangan berkisar antara

10.267–61.255 ha (Direktorat Bina Perlindungan Tanaman Pangan, 1992). Pada tahun 1998, serangan WBC di pulau Jawa kembali terjadi dan merusak lebih dari 10.000 ha sawah (Somantri, 1998). Sejak tahun 2007, terjadi kecenderungan peningkatan serangan WBC, terutama di sentra-sentra produksi padi di Jawa. Di pulau Jawa, luas serangan tahun 2009 mencapai sekitar 43.000 ha, 1.000 ha di antaranya mengalami puso (Baehaki, 2010).

Penanaman padi varietas unggul tahan wereng (VUTW) merupakan salah satu upaya penanganan hama WBC yang terbukti sangat bermanfaat. Selain karena penerapannya yang relatif mudah dan murah, juga tidak menyebabkan pencemaran lingkungan. Namun demikian, VUTW dapat patah ketahanannya hanya dalam 3–4 musim karena munculnya biotipe baru WBC (Ikeda dan Vaughan, 2004). Seperti varietas unggul IR42, IR64, dan Ciherang, yang berturut-turut dilepas pada tahun 1980, 1986, dan 2000, pada awalnya dinyatakan sebagai varietas tahan terhadap biotipe 1 dan 2, tetapi agak tahan atau rentan terhadap biotipe 3 (Suprihatno *et al.*, 2011), namun sekarang varietas-varietas tersebut sudah terserang sampai pada tingkat keparahan yang tinggi. Untuk mengatasi serangan WBC pada varietas IR42, IR64, dan Ciherang, saat ini dianjurkan untuk menanam varietas Inpari 13, terutama di daerah-daerah endemik hama WBC (Rozakurniati, 2010).

Dilihat dari gen ketahanan yang dimiliki, baik varietas IR42, IR64, Ciherang maupun Inpari 13 mempunyai gen tahan WBC *Bph1* atau *bph2* plus. Dari pengujian sebelumnya, plasma nutfah padi Rathu Heenati, yang diketahui mempunyai gen tahan *Bph3* (Jairin *et al.*, 2009; Sun *et al.*, 2005), sangat tahan terhadap biotipe yang menyerang IR64 dan Ciherang. Untuk tujuan perbaikan varietas, beberapa galur baru telah dihasilkan dari persilangan yang melibatkan varietas-varietas di atas sebagai tetuanya.

Bersamaan dengan kegiatan penelitian sebelumnya tentang karakterisasi berbagai populasi WBC yang merebak di berbagai lokasi, populasi-populasi WBC tersebut dimanfaatkan untuk menyeleksi dan mengetahui tingkat ketahanan galur-galur baru terhadap populasi WBC yang berkembang di lapang. Tujuan penelitian ini adalah untuk melakukan analisis pendugaan gen-gen *Bph1*, *bph2*, *Bph3*, dan *bph4* pada beberapa galur/varietas terpilih berdasarkan analisis molekuler dan menganalisis asosiasi antara data keragaan genotipe dengan data respon ketahanan galur-galur uji terhadap populasi WBC.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Rumah Kaca Cikeumeuh dan Laboratorium Biologi Molekuler, BB Biogen, Jalan Tentara Pelajar 3A, Bogor, pada tahun 2010–2012.

Material Genetik

Galur-galur hasil persilangan dengan latar belakang genetik yang beragam (Tabel 1) digunakan dalam penelitian ini. Galur-galur tersebut merupakan galur-galur terseleksi tahan terhadap hama WBC, yaitu populasi asal Jawa Tengah (Juwiring, Delanggu, Klaten) dan populasi asal Jawa Barat (Lumbang Juntinyuat, Indramayu), yang dikoleksi pada tahun 2011. Pendugaan gen-gen *Bph1*, *bph2*, *Bph3*, dan *bph4* dianalisis berdasarkan respon ketahanan galur-galur uji, termasuk beberapa varietas diferensial terkait dengan gen-gen target, serta berdasarkan keragaan genotipenya menggunakan marka molekuler penanda beberapa gen target yang telah terpetakan pada penelitian sebelumnya (Tabel 2).

Uji Ketahanan Galur-galur Padi terhadap Hama WBC

Uji ketahanan galur/varietas padi terhadap hama WBC menggunakan varietas standar IRRI, seperti Pelita I-1 (tanpa gen *bph*), Mudgo (*Bph1*), ASD7 (*bph2*), Rathu Heenati (*bph3*), dan PTB33 (*Bph1* dan *bph2*), beberapa varietas padi yang telah diketahui kandungan gen ketahanannya dan galur-galur harapan hasil persilangan. Percobaan dirancang menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan tiga ulangan. Setiap tanaman padi ditanam pada satu alur pada tanah di dalam kotak bibit berukuran sekitar 35 cm x 25 cm. Tanaman tersebut ditanam dalam barisan dengan 20–40 kecambah per baris. Lima hari setelah semai dilakukan penjarangan dengan menyisakan dua puluh tanaman padi yang tumbuh baik. Pada masing-masing kotak bibit tersebut diinfestasikan nimfa WBC instar 2–3 dengan metode keprik (*tapping method*) secara merata delapan ekor nimfa per kecambah. Penilaian kerusakan tanaman menggunakan skor berdasarkan pada *Standard Evaluation System for Rice* (IRRI, 1996), yaitu skor 0: tidak ada kerusakan, 1: kerusakan sangat sedikit, 3: kebanyakan daun pertama dan kedua dari tanaman menguning sebagian, 5: tanaman menguning dan kerdil atau sekitar 10–25% tanaman layu, 7: lebih dari setengah tanaman layu atau mati dan tanaman yang sisa sangat kerdil atau mengering, dan 9: semua tanaman mati. Untuk penentuan ketahanan tanaman padi terhadap WBC, digunakan prosedur dari Baehaki dan Munawar (2007).

Tabel 1. Galur dan varietas padi yang dianalisis kandungan gen-gen ketahanannya terhadap hama WBC.

No.	Galur/varietas	Kombinasi persilangan	Keterangan
1.	BISH1-MR-16-4-LR-B39-6-PN-1	Code/B11008E-MR-2-5-PN-3	Galur harapan
2.	B11007E-MR-3-2-PN-2-1-MR-1-1	Cisantana/Sintanur/IR66160/IR71031	Galur harapan
3.	B11007E-MR-3-2-PN-2-1-MR-1-2		Galur harapan
4.	B12344-2D-PN-42-1	IR64 ² /O.rufipogon 102186	Galur harapan
5.	B12344-2D-PN-42-3		Galur harapan
6.	B12689-MR-6-1-PN-2-3	BISH1-MR-160-4-LR-B39-6/8/B11742-RS3-4-1/7/IR71190/4/BP360E/Code//BP360E/3/IR68552/BP 360E//IR68552/5/BP360E-MR-79-2-PN-3/3/UPL-RI-17//Hamolicad/TAJUM/6/Lampung putih/IR71190//Lampung pulen/IR36	Galur harapan
7.	B12689E-RS ¹ -4-6-5	BISH 1-MR-160-4-LR-B39-6/8/B11742-RS ³ -2-1-1/7/Selegreng/Batang Gadis/8/B11742-RS3-4-1/7/IR71190/4/BP360E/Ccode//BP360E//3/IR68552/BP360E//IR68552/5/BP360E-MR-79-PN-3//3/UPLRI-17//Hamolicad/Tajum/6/Lampung putih/IR71190//Lampung pulen/IR36	Galur harapan
8.	B123411E-MR-9-5-1	IR64 ² /O.rufipogon 102186	Galur harapan
9.	B12512-18-SI-3-3-MR-3-PN-1	FAT//FAT/KLEMAS/3/PANDAN PUTRI/BARUMUN/4/CISANTANA/B10590E//NH124-24/HSPR/5/Klema/IR71190//Lampung Pulen/Bio12-26/3/Cisantana/B10590//NH 124-24/HSPR Ciherang/IR71218-39-3-2-MR-11//Ciherang DH: IR64/O. rufipogon (Acc No. IRGC#105491) DH: IR54/Parekaligolara/Bio110/Markuti	Galur harapan
10.	B12980-MR-1-3-PN-2-3		Galur harapan
11.	Bio62-AC-Blas/BLB-03		Galur harapan
12.	BMIP46-4-1		Galur harapan
13.	IR64 (<i>Bph1</i>)		Varietas elit
14.	Ciherang		Varietas elit
15.	Inpari 13		Varietas elit
16.	IR42		Varietas elit
17.	ASD7 (<i>bph2</i>)		Varietas diferensial
18.	Mudgo (<i>Bph1</i>)		Varietas diferensial
19.	Rathu Heenati (<i>Bph3</i>)		Varietas diferensial
20.	PTB33 (<i>bph2+Bph3</i>)		Varietas diferensial
21.	Pelita		Varietas diferensial

Tabel 2. Marka molekuler penanda gen *Bph/bph* target yang digunakan dalam analisis keragaan genotipe galur-galur uji.

Gen	MarkaSSR*	Kromosom	Sumber gen ketahanan**	Referensi
<i>Bph1</i>	RM247	12	Mudgo	Cha <i>et al.</i> (2008)
<i>bph2</i>	RM463	2	ASD7 (Acc. 6303)	Sun <i>et al.</i> (2006)
<i>Bph3</i>	RM589	6	Rathu Heenati (Acc. 6730)	Jairin <i>et al.</i> (2009)
<i>bph4</i>	RM586	2	Babawee	Jairin <i>et al.</i> (2010)

*Marka SSR yang terpaut dengan masing-masing gen *Bph/bph*. **Tanaman sumber gen ketahanan untuk masing-masing gen *Bph/bph*.

Jika rata-rata skor kerusakan bernilai 0–1 maka varietas dikategorikan sebagai sangat tahan, >1–3: tahan, nilai >3–5: agak tahan, >5–7: agak rentan, dan >7–9: sangat rentan.

Analisis Keragaan Genotipe Menggunakan Marka Gen-gen Target

Analisis diawali dengan mengekstraksi DNA dari sampel tanaman yang diuji. Ekstraksi DNA dilakukan dengan teknik *miniprep* menggunakan mesin *Tissue LyzerII* yang dimodifikasi dari metode Wang *et al.* (1993). Beberapa tahapan dari ekstraksi DNA tersebut, yaitu daun dari setiap sampel tanaman yang berumur 7 hari dipotong dan dimasukkan ke dalam tabung mikro 2 ml, kemudian ditambahkan 200 µl NaOH 0,25N dan dimasukkan dua butir *beads*. Daun dari sampel tanaman kemudian digerus secara otomatis menggunakan mesin *vibration mill TissueLyzerII*

(Retsch type MM300, Retsch GmbH (Germany) dengan frekuensi 25 Hz selama 1 menit. Sebelumnya *warm it up* mesin perlu dilakukan dengan frekuensi 3 Hz selama 1 menit. Setelah itu, ditambahkan 800 µl Tris 100 mM (pH 7,5) ke dalam setiap tabung. Setelah dicampur secara merata, kemudian tabung disentrifugasi dengan kecepatan 100 rpm selama 10 menit. Bagian atas (400 µl dari 1.000 µl), yaitu bagian cairan, diambil dan ditransfer ke tabung mikro yang baru. DNA yang diperoleh kemudian digunakan untuk proses selanjutnya atau disimpan di dalam *freezer* (-20°C). Hasil DNA yang telah terekstrak selanjutnya digunakan untuk analisis PCR, setelah dilakukan pengenceran konsentrasi sebelumnya. Adapun komposisi reaksi PCR menggunakan marka-marka molekuler, yaitu 11,44 µl MQ_{dd}H₂O, 2 µl 10× bufer PCR, 1,2 µl MgCl₂ 25 mM, 0,6 µl dNTPs 10 mM, 0,6 µl primer (F), 1,0 µl primer (R), 0,16 µl Taq DNA polimerase, dan 2 µl

DNA 50 ng. Profil PCR yang digunakan, yaitu predenaturasi 95°C selama 3 menit, denaturasi 94°C selama 1 menit, penempelan primer 50°C selama 1 menit, dan pemanjangan primer 72°C selama 2 menit. Siklus PCR diulang sebanyak tiga puluh kali dengan pemanjangan akhir 72°C selama 5 menit. Hasil analisis PCR divisualisasi dengan elektroforesis menggunakan gel agarosa 1–2%.

Analisis Data

Data keragaan genotipe galur-galur uji dari setiap marka molekuler dianalisis berdasarkan ada tidaknya pita DNA hasil amplifikasi PCR. Sebagai rujukan, dipakai keragaan genotipe beberapa varietas diferensial, seperti Mudgo (*Bph1*), ASD7 (*bph2*), Rathu Heenati (*Bph3 linked bph4*), dan PTB33 (*bph2 linked Bhp3*). Terdapatnya pita hasil amplifikasi mengindikasikan bahwa sampel tanaman yang diuji memiliki alel dari beberapa gen *Bph/bph* target yang berpautan dengan marka tersebut. Selanjutnya, dilakukan analisis perbandingan antara data keragaan genotipe yang diperoleh dan keragaan data fenotipe. Dengan analisis hubungan antara data ketahanan galur terhadap WBC dan keragaan genotipe berdasarkan marka molekuler yang digunakan, dapat dilakukan pendugaan gen-gen yang bertanggung jawab dalam sifat ketahanan galur-galur uji terhadap WBC.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pendugaan Gen *Bph1* pada Galur-galur Uji

Pendugaan keberadaan gen *Bph1* pada galur-galur uji dilakukan menggunakan marka DNA yang terkait dengan gen tersebut, yang diketahui terpetakan pada kromosom 12, yaitu RM 247 (Cha *et al.*, 2008). Hasil analisis PCR pada DNA sampel tanaman uji menggunakan marka penanda gen *Bph1* ditampilkan pada Gambar 1.

Hasil di atas menunjukkan bahwa marka gen *Bph1* dapat menandai beberapa galur/varietas, yaitu BISH1-MR-16-4-LR-B39-6-PN-1, B12344-2D-PN-42-1, B12689E-RS^{*1}-4-6-5, Bio162-AC-Blas/BLB-03, IR64, IR42, dan Mudgo. Di antara galur/varietas di atas, terdapat salah satu varietas diferensial yang telah diketahui memiliki gen *Bph1*, yaitu varietas Mudgo (Cha *et al.*, 2008). Dari hasil pendugaan genotipe (Gambar 1) dan juga berdasarkan respon ketahanan dari data penelitian sebelumnya, diindikasikan bahwa varietas IR64 dan IR42 juga memiliki alel dari gen *Bph1* dan bersifat rentan (skor 9) terhadap kedua populasi WBC yang menyeranginya, sedangkan empat galur yang lain, yaitu BISH1-MR-16-4-LR-B39-6-PN-1, B12689E-RS^{*1}-4-6-5, B12344-2D-PN-42-1, dan Bio62-AC-Blas/BLB-03 kemungkinan memiliki gen yang lain selain *Bph1* karena bersifat lebih tahan terhadap kedua populasi WBC. Satu di antaranya, yaitu galur B12344-2D-PN-42-1 juga sudah terdeteksi memiliki alel gen *Bph3*.

Pendugaan Gen *bph2* pada Galur-galur Uji

Pendugaan gen *bph2* dilakukan menggunakan marka SSR terkait, yaitu RM463 yang telah diketahui terpetakan pada kromosom 2 (Sun *et al.*, 2006). Hasil analisis PCR pada DNA sampel tanaman uji menggunakan marka penanda gen *bph2*, ditampilkan pada Gambar 2.

Hasil pada Gambar 2 menunjukkan terdapat beberapa galur/varietas yang tidak diperoleh hasil amplifikasinya dengan marka gen *bph2*, yaitu B12344-2D-PN-42-1, B123411E-MR-9-5-1, B12512-18-SI-3-3-MR-3-PN-1, B12980-MR-1-3-PN-2-3, Bio62-AC-Blas/BLB-03, dan Pelita. Hal ini mengindikasikan varietas dan galur di atas tidak terdeteksi memiliki alel gen *bph2*.



Gambar 1. Keragaan hasil survei genetika 21 galur/varietas menggunakan marka molekuler penanda gen *Bph1*. M = 100 bp DNA ladder, 1 = ASD7, 2 = PTB33, 3 = Inpari 13, 4 = IR64, 5 = IR42, 6 = Mudgo, 7 = Ciherang, 8 = Pelita, 9 = Rathu Heenati, 10 = B11007E-MR-3-2-PN-2-1-MR-1-, 11 = BISH1-MR-16-4-LR-B39-6-PN-1, 12 = B11007E-MR-3-2-PN-2-1-MR-1-2, 13 = B12344-2D-PN-42-1, 14 = B12344-2D-PN-42-3, 15 = B12689-MR-6-1-PN-2-3, 16 = B12980-MR-1-3-PN-2-3, 17 = B12689E-RS^{*1}-4-6-5, 18 = B123411E-MR-9-5-1, 19 = B12512-18-SI-3-3-MR-3-PN-1, 20 = BMIP46-4-1, 21 = Bio62-AC-Blas/BLB-03.

Pendugaan Gen *Bph3* dan *bph4* pada Galur-galur Uji

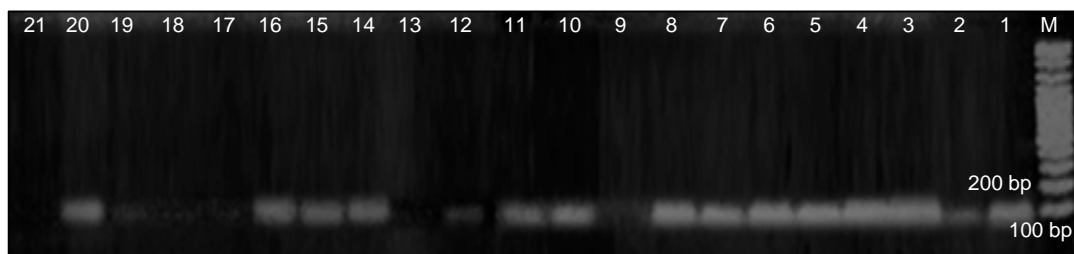
Beberapa varietas padi dikategorikan sebagai varietas uji diferensial ketahanan terhadap WBC, telah diketahui memiliki gen *Bph* atau *bph* berdasarkan analisis pemetaan gen. Misalnya, varietas Rathu Heenati (Acc. 11730) diketahui memiliki gen *Bph3* yang terpetakan pada kromosom 6, pada lokus RM7 (Sun *et al.*, 2005), sedangkan varietas Rathu Heenati dengan nomor aksesori lain, yaitu Acc. 6730 juga diketahui memiliki gen *Bph3* yang juga terpetakan pada kromosom 6, tetapi pada lokus yang berbeda, yaitu RM589 (Jairin *et al.*, 2009). Informasi ini dapat digunakan sebagai acuan untuk analisis kandungan gen-gen *Bph/bph* pada galur-galur baru tahan hama WBC hasil pemuliaan.

Hasil pengujian respon ketahanan menunjukkan bahwa galur BMIP46-4-1 bersifat tahan terhadap populasi WBC asal Jawa Barat dan agak tahan terhadap populasi Jawa Tengah, sedangkan galur B12344-2D-PN-42-1 dan varietas Inpari 13 bersifat tahan terhadap populasi Jawa Tengah, tetapi agak tahan terhadap populasi Jawa Barat. Respon ketahanan galur/varietas ini setara dengan respon ketahanan varietas Rathu Heenati dan PTB33, yang memiliki gen *Bph3*. Hasil ini

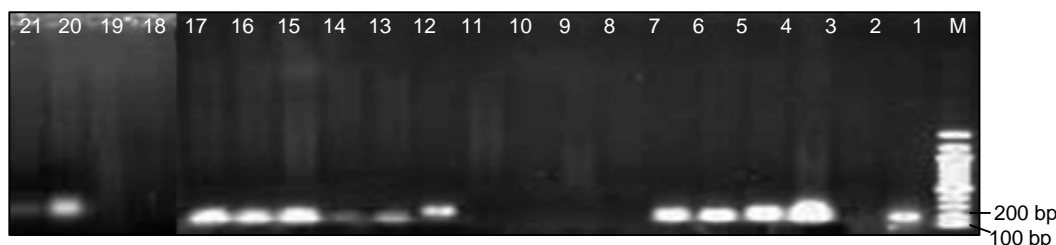
didukung dengan pendugaan berdasarkan marka molekuler RM589 yang terpaut dengan gen *Bph3* (Jairin *et al.*, 2009; Sun *et al.*, 2005) (Gambar 3)

Hasil analisis keragaan genotipe menggunakan marka molekuler penanda gen *Bph3* pada Gambar 3 menunjukkan bahwa B11007E-MR-3-2-PN-2-1-MR-1-2, B12344-2D-PN-42-1, BMIP46-4-1, Inpari 13, Rathu Heenati, dan PTB33 memiliki pita DNA hasil amplifikasi menggunakan marka molekuler terkait gen *Bph3*. Hasil pengujian fenotipe menunjukkan bahwa varietas Rathu Heenati dan BMIP46-4-1 lebih tahan terhadap populasi WBC asal Jawa Barat dibanding dengan populasi Jawa Tengah. Hasil ini mengindikasikan bahwa ketahanan galur BMIP46-4-1 dikontribusikan oleh gen *Bph3* yang dapat menekan serangan populasi Jawa Tengah, sedangkan galur B12344-2D-PN-42-1 dan varietas Inpari 13 diduga memiliki gen lain selain *Bph3* karena bersifat lebih tahan terhadap populasi Jawa Tengah yang terindikasi lebih virulen dibanding dengan populasi Jawa Barat.

Galur-galur uji lain yang bersifat agak tahan terhadap kedua populasi WBC, yaitu BISH1-MR-16-4-LR-B39-6-PN-1, B11007E-MR-3-2-PN-2-1-MR-1-1, dan B11007E-MR-3-2-PN-2-1-MR-1-2. Berdasarkan analisis pendugaan genotipe dan fenotipe, ketahanan galur-



Gambar 2. Keragaan hasil survei genetik 21 galur/varietas menggunakan marka molekuler penanda gen *bph2*. M = 100 bp DNA ladder, 1 = ASD7, 2 = IR42, 3 = Inpari 13, 4 = IR64, 5 = PTB33, 6 = Mudgo, 7 = Rathu Heenati, 8 = Ciherang, 9 = Pelita, 10 = BISH1-MR-16-4-LR-B29-6-PN-1, 11 = B11007E-MR-3-2-PN-2-1 (-MR-1-1, 12 = B11007E-MR-3-2-PN-2-1-MR-1-2, 13 = B12344-2D-PN-42-1, 14 = B12689-MR-6-1-PN-2-3, 15 = B12689E-RS^{*1}-4-6-5, 16 = B12344-2D-PN-42-3, 17 = B123411E-MR-9-5-1, 18 = B12980-MR-1-3-PN-2-3, 19 = B12512-18-SI-3-3-MR-3-PN-1, 20 = BMIP46-4-1, 21 = Bio62-AC-Blas/BLB-03.



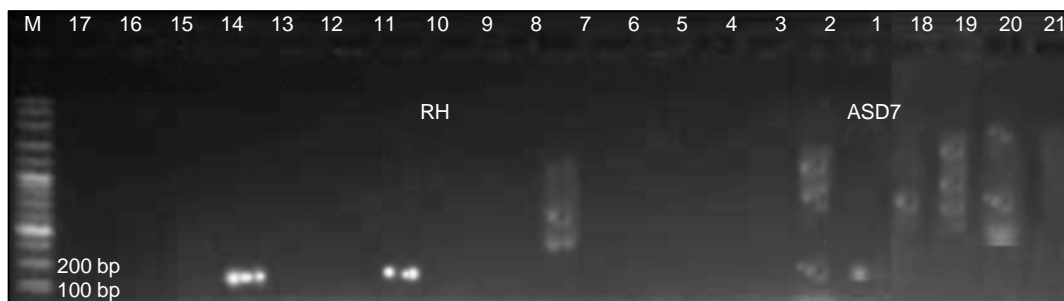
Gambar 3. Keragaan hasil survei genetik 21 galur/varietas menggunakan marka molekuler penanda gen *Bph3*. M = 100 bp DNA ladder, 1 = Inpari 13, 2 = ASD7, 3 = PTB33, 4 = Rathu Heenati, 5 = IR42, 6 = IR64, 7 = Ciherang, 8 = Pelita, 9 = Mudgo, 10 = BISH1-MR-16-4-LR-B39-6-PN-1, 11 = BMIP46-4-1, 12 = B12512-18-SI-3-3-MR-3-PN-1, 13 = B12980-MR-1-3-PN-2-3, 14 = B12344-2D-PN-42-1, 15 = B11007E-MR-3-2-PN-2-1-MR-1-1, 16 = B11007E-MR-3-2-PN-2-1-MR-1-2, 17 = B12689-MR-6-1-PN-2-3, 18 = B12689E-RS^{*1}-4-6-5, 19 = B12344-2D-PN-42-1, 20 = Bio62-AC-Blas/BLB-0, 21 = B12344-2D-PN-42-3.

galur tersebut bersifat agak tahan terhadap kedua koloni WBC. Hal ini disebabkan selain dikontribusikan oleh alel dari gen *Bph3*, juga *bph4*, khususnya pada galur B11007E-MR-3-2-PN-2-1-MR-1-2 (Gambar 4, lajur 13).

Galur BISH1-MR-16-4-LR-B39-6-PN-1 bersifat agak tahan, baik terhadap populasi WBC asal Jawa Tengah maupun Jawa Barat, sedangkan galur B12344-2D-PN-42-1 bersifat tahan terhadap populasi Jawa Tengah dan agak tahan terhadap populasi Jawa Barat (Tabel 3). Secara genotipik, kedua galur ini menunjukkan perbedaan, khususnya pada marka penanda gen *Bph3* (RM589). Galur BISH1-MR-16-4-LR-B39-6-PN-1 tidak terdeteksi mempunyai alel *Bph3*, sedangkan galur B12344-2D-PN-42-1 terdeteksi memiliki alel gen

Bph3. Galur B123411E-MR-9-5-1 yang juga terdeteksi hanya memiliki alel *Bph3* bersifat tahan terhadap populasi Jawa Tengah. Secara keseluruhan, keragaan genotipe dan fenotipe galur-galur terpilih beserta varietas diferensial pembanding terangkum dalam Tabel 3.

Tabel 3 menunjukkan terdapat empat galur, satu varietas elit, dan satu varietas diferensial yang tergolong tahan terhadap salah satu populasi WBC yang diuji, yaitu galur B12344-2D-PN-42-1, B12512-18-SI-3-3-MR-3-PN-1, BMIP46-4-1, B123411E-MR-9-5-1, Inpari 13, dan PTB33. Keenam genotipe tersebut terdeteksi memiliki alel gen *Bph3*. Di samping gen *Bph3*, beberapa di antaranya juga terdeteksi memiliki gen lain, seperti galur B12344-2D-PN-42-1 dan varietas Inpari 13



Gambar 4. Keragaan hasil survei genetik 21 galur/varietas menggunakan marka molekuler penanda gen *bph4*. M = 100 bp DNA ladder, 1 = ASD7, 2 = PTB33, 3 = Inpari 13, 4 = IR64, 5 = IR42, 6 = Mudgo, 7 = Ciherang, 8 = Pelita, 9 = BISH1-MR-16-4-LR-B39-6-PN-1, 10 = Rathu Heenati, 11 = B11007E-MR-3-2-PN-2-1-MR-1-1, 12 = B12344-2D-PN-42-3, 13 = B11007E-MR-3-2-PN-2-1-MR-1-2, 14 = B12689-MR-6-1-PN-2-3, 15 = B12689E-RS¹-4-6-5, 16 = B12344-2D-PN-42-1, 17 = B12980-MR-1-3-PN-2-3, 18 = B123411E-MR-9-5-1, 19 = B12512-18-SI-3-3-MR-3-PN-1, 20 = Bio62-AC-Blas/BLB-03, 21 = BMIP46-4-19.

Tabel 3. Keragaan 21 genotipe dan fenotipe terkait dengan gen *Bph3* dan *Bph4*.

No.	Genotipe	Respon fenotipe (skor)*		Genotipe**			
		Populasi Jateng	Populasi Jabar	RM247 (<i>Bph1</i>)	RM463 (<i>bph2</i>)	RM589 (<i>Bph3</i>)	RM586 (<i>bph4</i>)
1.	BISH1-MR-16-4-LR-B39-6-PN-1	Agak tahan (3)	Agak tahan (3)	+	+	-	-
2.	B11007E-MR-3-2-PN-2-1-MR-1-1	Agak tahan (3)	Agak tahan (3)	-	+	+	-
3.	B11007E-MR-3-2-PN-2-1-MR-1-2	Agak rentan (5)	Agak tahan (3)	-	-	+	+
4.	B12344-2D-PN-42-1	Tahan (1)	Agak tahan (3)	+	+	+	-
5.	B12344-2D-PN-42-3	Agak tahan (3)	Agak rentan (5)	-	+	-	-
6.	B12689-MR-6-1-PN-2-3	Agak rentan (5)	Agak rentan (5)	-	+	-	-
7.	B12689E-RS ¹ -4-6-5	Agak rentan (5)	Agak rentan (5)	+	+	-	-
8.	B123411E-MR-9-5-1	Tahan (1)	Rentan (7)	-	-	+	-
9.	B12512-18-SI-3-3-MR-3-PN-1	Tahan (1)	Agak rentan (5)	-	+	+	-
10.	B12980-MR-1-3-PN-2-3	Agak tahan (3)	Agak rentan (5)	-	-	+	-
11.	Bio62-AC-Blas/BLB-03	Agak rentan (5)	Agak rentan (5)	+	-	-	-
12.	BMIP46-4-1	Agak tahan (3)	Tahan (1)	-	+	+	-
13.	IR64 (<i>Bph1</i>)	Agak rentan (5)	Rentan (7)	+	+	+	-
14.	Ciherang	Rentan (9)	Rentan (9)	-	+	-	-
15.	Inpari 13	Tahan (1)	Agak tahan (3)	-	+	+	-
16.	IR42 (<i>bph2</i>)	Rentan (9)	Rentan (9)	+	+	+	-
17.	ASD7 (<i>bph2</i>)	Rentan (9)	Rentan (9)	-	+	-	+
18.	Mudgo (<i>Bph1</i>)	Rentan (9)	Rentan (9)	+	+	-	-
19.	Rathu Heenati (<i>Bph3</i>)	Agak rentan (5)	Agak tahan (3)	-	+	+	+
20.	PTB33 (<i>bph2</i> + <i>Bph3</i>)	Tahan (1)	Agak tahan (3)	-	+	+	-
21.	Pelita	Rentan (9)	Rentan (9)	-	-	-	-

*Angka dalam kurung menunjukkan nilai skor ketahanan tanaman padi terhadap hama WBC. **(+)= diperoleh pita DNA hasil amplifikasi PCR, (-) = tidak diperoleh pita DNA hasil amplifikasi.

terdeteksi memiliki gen *Bph1*, galur B12512-18-SI-3-3-MR-3-PN-1, BMIP46-4-1, dan varietas diferensial PTB33 juga terdeteksi memiliki gen *bph2*. Dengan demikian, kombinasi gen *Bph3* dengan gen *Bph1* atau *bph2* berkontribusi membentuk sifat tahan terhadap salah satu populasi WBC asal Jawa Barat atau Jawa Tengah. Varietas Rathu Heenati yang selama ini diketahui sebagai varietas diferensial untuk gen *Bph3*, dari hasil analisis terdeteksi juga memiliki alel gen *bph2* dan *bph4*. Namun, varietas ini tidak menunjukkan respon ketahanan yang lebih baik dibanding dengan galur uji yang lainnya yang bersifat agak rentan (skor 5) terhadap populasi Jawa Tengah. Dari hasil analisis pendugaan ini terdapat indikasi bahwa apabila genotipe terdeteksi memiliki kedua alel gen *Bph3* dan *Bph4*, genotipe tersebut menunjukkan respon ketahanan yang lebih rentan dibanding dengan genotipe yang memiliki salah satu dari alel gen *Bph3* atau *bph4* saja. Hal ini juga terlihat pada galur B11007E-MR-3-2-PN-2-1-MR-1-2 yang terdeteksi memiliki gen *Bph3* dan *bph4* yang menunjukkan respon ketahanan yang bersifat agak rentan (skor 5) terhadap populasi Jawa Tengah dan agak tahan (skor 3) terhadap populasi Jawa Barat. Tampaknya terdapat efek negatif terhadap respon ketahanan apabila suatu genotipe memiliki kedua gen tersebut. Gen *Bph3* dan *bph4* terpetakan pada *region* yang sama dari kromosom 6 (Jairin *et al.*, 2009, 2010; Sidhu dan Khush, 1979), yaitu terpetakan pada posisi yang diapit oleh marka RM589 dan RM586. Jadi, kedua gen terpetakan pada lokus yang berbeda, tetapi terpaut dekat. Berdasarkan hasil pada Tabel 4 dan hasil penelitian pemetaan gen *Bph3* dan *bph4*, terdapat kemungkinan bahwa gen ketahanan terhadap WBC, *Bph3* dan *bph4*, memiliki bagian sekuen genomik yang sama yang apabila keduanya ada dalam satu genotipe akan memberikan efek negatif terhadap tingkat ketahanan WBC. Hasil ini mungkin dapat dijadikan pertimbangan dalam program perakitan galur tahan hama WBC yang akan menggabungkan gen *Bph3* dan *bph4* dalam satu galur.

Hasil pada Tabel 3 juga menunjukkan bahwa varietas Inpari 13 dan varietas diferensial PTB 33 memiliki keragaan respon ketahanan terhadap populasi uji dan keragaan genotipe yang sama, sedangkan galur BMIP46-4-1 dan B12512-18-SI-3-3-MR-3-PN-1 memiliki keragaan genotipe yang sama, yaitu terdeteksi memiliki alel gen *bph2* dan *Bph3*, tetapi menunjukkan respon ketahanan terhadap WBC yang tidak sama. Galur BMIP-46-4-1 bersifat tahan (skor 1) terhadap populasi Jawa Barat, tetapi agak tahan (skor 3) terhadap populasi Jawa Tengah. Kondisi sebaliknya terjadi pada galur B12512-18-SI-3-3-MR-3-PN-1 yang bersifat tahan (skor 1) terhadap populasi Jawa Tengah, tetapi

agak rentan (skor 5) terhadap populasi Jawa Barat. Hasil ini mengindikasikan bahwa serangan WBC, baik yang berasal dari Jawa Tengah maupun Jawa Barat, mampu mengaktifkan gen *Bph3* sehingga tanaman bersifat tahan terhadap salah satu dari populasi WBC tersebut. Namun tingkat keparahan yang berbeda terhadap salah satu populasi WBC mengindikasikan bahwa kedua galur tersebut kemungkinan memiliki gen lain selain gen-gen yang dianalisis dalam penelitian ini (*Bph1*, *bph2*, *Bph3*, dan *bph4*) yang berbeda satu dengan yang lain. Dengan demikian, galur BMIP46-4-1 lebih tahan terhadap populasi Jawa Barat, sedangkan galur B12512-18-SI-3-3-MR-3-PN-1 lebih tahan terhadap populasi Jawa Tengah.

KESIMPULAN

Pendugaan gen ketahanan pada galur/varietas padi tahan hama WBC, berdasarkan uji fenotipe terdapat empat galur, satu varietas elit, dan satu varietas diferensial yang tergolong tahan, yaitu galur B12344-2D-PN-42-1, B12512-18-SI-3-3-MR-3-PN-1, BMIP46-4-1, B123411E-MR-9-5-1, Inpari 13, dan PTB33 terhadap populasi WBC asal Jawa Barat atau Jawa Tengah. Keenam galur/varietas tersebut selain terdeteksi memiliki alel gen *Bph3* juga terdeteksi memiliki alel gen lain. Keenam galur/varietas tersebut adalah galur B12344-2D-PN-42-1 dan varietas Inpari 13 yang terdeteksi memiliki gen *Bph3* dan *Bph1*; galur B12512-18-SI-3-3-MR-3-PN-1, B12512-18-SI-3-3-MR-3-PN-1, BMIP46-4-1, dan varietas PTB33 yang terdeteksi memiliki gen *Bph3* dan *bph2*. Galur B11007E-MR-3-2-PN-2-1-MR-1-2 terdeteksi memiliki alel dari tiga gen, yaitu *Bph3*, *bph2*, dan *bph4*. Meskipun terdeteksi memiliki tiga alel gen ketahanan, galur B11007E-MR-3-2-PN-2-1-MR-1-2 ini hanya bersifat agak tahan terhadap kedua populasi uji. Terdapat kemungkinan adanya interaksi antara gen *Bph3* dan *bph4* yang berpengaruh terhadap respon ketahanan tanaman terhadap hama WBC.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Program Insentif Riset Terapan Kementerian Ristek dan Teknologi dengan surat perjanjian 1.08.04/SEK/R/PPK/I/2012 tanggal 17 Januari 2012 sebagai penyandang dana. Ucapan terima kasih disampaikan pula kepada Habib Rijzaani, M.Si., Siti Yuriyah, S.Si., dan Prof. Bahagiawati yang telah banyak membantu sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Baehaki, S.E. 2010. Ledakan wereng cokelat dan virus kerdil mengancam produksi padi nasional. Makalah Seminar, Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan. Bogor, 8 Juli 2010.
- Baehaki, S.E. dan D. Munawar. 2007. Identifikasi biotipe wereng cokelat di Jawa, Sumatera, dan Sulawesi dan reaksi ketahanan kultivar padi. Apresiasi Hasil Penelitian Padi. 58 hlm.
- Cha, Y., H. Ji, D. Yun, B. Ahn, M.C. Lee, S. Suh, C.S. Lee, E.K. Ahn, Y. Jeon, I. Jin, J. Sohn, H. Koh, and M. Eun. 2008. Fine mapping of the rice *Bph1* gene which confers resistance to brown planthopper and development of EST markers for marker assisted selection. Mol. Cell 26:146-151.
- Direktorat Bina Perlindungan Tanaman Pangan. 1992. Evaluasi serangan organisme pengganggu utama padi selama lima tahun (1986-1990) berdasarkan laporan pengamatan hama. Direktorat Jenderal Pertanian Tanaman Pangan. Jakarta. 84 hlm.
- Jairin, J., S. Teangdeerith, P. Leelagud, J. Kothcharerk, K. Sansen, M. Yi, A. Vanavichit, and T. Toojinda. 2009. Development of rice introgression lines with brown planthopper resistance and KDML 105 grain quality characteristics through marker assisted selection. Field Crops Res. 110(3):263-271.
- Jairin, J., K. Sansen, W. Woongboon, and J. Kothcharerk. 2010. Detection of a brown planthopper resistance gene *bph4* at the same chromosomal position of *Bph3* using two differential genetic backgrounds of rice. Breed. Sci. 60:71-75.
- Ikeda, R. and D.A. Vaughan. 2004. The distribution of resistance genes to the brown planthopper in the germplasm. International Rice Research Institute. Los Banos, Philippines. Rice Genetic Newsletter 8:125-127.
- IRRI. 1996. Standard Evaluation System for Rice. 4th edition. International Rice Research Institute (IRRI). Los Banos, Philippines. 52 p.
- Mochida, O. 1979. Brown planthopper reduce rice production. Indon. Agric. Res. Dev. J. 1(1 and 2):2-7.
- Oka, I.N. and Bahagiawati. 1984. Development and management of a new brown planthopper (*Nilaparvata lugens* Stål) biotype in North Sumatra, Indonesia. Contr. CRIA No. 71. 33 p.
- Rozakurniati. 2010. Inpari 13 padi sangat genjah dan tahan wereng cokelat. Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian 32(6):7-9.
- Sidhu, G.S. and G.S. Khush. 1979. Linkage relationships of some genes for disease and insect resistance and semidwarf stature in rice. Euphytica 28:233-237.
- Somantri, I.H. 1998. Hama wereng cokelat padi: Perkembangan biotipe, mekanisme dan genetika ketahanan varietas. Bul. Agrobio 2(1):36-44.
- Sun, L., C. Su, C.Wang, H. Zai, and J. Wan. 2005. Mapping of a major resistance gene to brown planthopper in the rice cultivar Rathu Heenati. Breed. Sci. 55:391-396.
- Sun, L.H., C.M. Wang, C.C. Su, Y.Q. Liu, H.Q. Zhai, and J. Wan. 2006. Mapping and marker-assisted selection of a brown planthopper resistance gene *bph2* in rice (*Oryza sativa* L.). Acta Genet. Sin. 33:717-723.
- Suprihatno, B., A.A. Daradjat, Satoto, Suwarno, E. Lubis, S.E. Baehaki, S. Sudir, D. Indrasari, I.P. Wardana, dan M.J. Mejaya. 2011. Deskripsi Varietas Padi. Balai Besar Penelitian Tanaman Padi. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Kementerian Pertanian. 118 hlm.
- Wang, H., M. Qi, and A.J. Cutler. 1993. A simple method of preparing plant samples for PCR. Nucleic Acids Res. 21:4153-4154.